



iCourse · 教材
高等学校基础医学系列



自主创新
方法先行

(供临床、基础、预防、护理、检验、口腔、药学等专业用)

病原生物与免疫学实验

主编 刘世国 刘伯阳

高等教育出版社



iCourse · 教材
高等学校基础医学系列



自主创新
方法先行

(供临床、基础、预防、护理、检验、口腔、药学等专业用)

病原生物与免疫学实验

主 审 石佑恩

主 编 刘世国 刘伯阳

副主编 曹 婧 包丽丽 梁韶晖

编 者 (按姓氏拼音排序)

包丽丽 (内蒙古医科大学)

陈 锋 (新疆医科大学)

黄红兰 (吉林大学)

梁韶晖 (温州医科大学)

刘世国 (新乡医学院)

宋向凤 (新乡医学院)

王香江 (莆田学院)

叶吉云 (昆明医科大学)

郑 斌 (新乡医学院)

曹 婧 (大连医科大学)

高云星 (皖南医学院)

江 滢 (贵阳医学院)

刘伯阳 (齐齐哈尔医学院)

申金雁 (山西医科大学)

王 松 (新疆医科大学)

杨 帆 (新乡医学院)

张艳丽 (宁夏医科大学)

高等教育出版社·北京

内容提要

本实验教材包括医学微生物学实验、医学寄生虫学实验、医学免疫学实验及综合性实验四篇二十七个实验。全书纸质内容与数字化资源一体化设计,数字课程涵盖了材料实录、结果观察、图片、操作视频、自测题、教学 PPT 等资源,利于学生自主学习,提升教学效果。

本书适用于高等学校临床、基础、预防、护理、检验、口腔、药学等专业学生,也是学生参加执业医师考试的必备书,还可供临床医务工作者和医学研究人员参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

病原生物与免疫学实验 / 刘世国, 刘伯阳主编. --
北京: 高等教育出版社, 2015.2

iCourse·教材: 高等学校基础医学系列

ISBN 978-7-04-039017-9

I. ①病… II. ①刘… ②刘… III. ①病原微生物—
实验—高等学校—教材②医药学—免疫学—实验—高等
学校—教材 IV. ① R37-33 ② R392-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 011661 号

项目策划 林金安 吴雪梅 杨 兵

策划编辑 瞿德斌 责任编辑 瞿德斌 装帧设计 张 楠 责任印制 韩 刚

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100120
印 刷 北京汇林印务有限公司
开 本 889mm×1194mm 1/16
印 张 10.25
字 数 270千字
购书热线 010-58581118

咨询电话 400-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
版 次 2015年2月第1版
印 次 2015年2月第1次印刷
定 价 23.60元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物 料 号 39017-00

iCourse·数字课程(基础版)

病原生物与 免疫学实验

主编 刘世国 刘伯阳

<http://abook.hep.com.cn/39017>



iCourse·教材
高等学校基础医学系列



自主创新
方法先行

登录方法:

1. 访问<http://abook.hep.com.cn/39017>
2. 输入数字课程用户名(见封底明码)、密码
3. 点击“进入课程”

账号自登录之日起一年内有效,过期作废

使用本账号如有任何问题

请发邮件至: medicine@pub.hep.cn

病原生物与免疫学实验

主编 刘世国 刘伯阳

用户名

密码

验证码

3950

进入课程

使用说明

内容介绍

纸质教材

版权信息

联系方式

病原生物与免疫学实验数字课程与纸质教材一体化设计,紧密配合。数字课程分材料实录、结果观察、图片、操作视频、自测题和教学PPT等板块。充分运用多种形式媒体资源,极大地丰富了知识的呈现形式,拓展了教材内容。在提升课程教学效果同时,为学生学习提供思维与探索的空间。



数字课程网站

网址: <http://abook.hep.com.cn/39017>
<http://abook.hep.com.cn/39017>

用户名: 输入教材封底的16位明码; 密码: 刮开“增值服务”涂层, 输入16位暗码; 输入正确的验证码后, 点击“进入课程”开始学习。

系列教材



医学微生物学

李凡 韩梅



医学免疫学

司徒平 丁剑冰梅



医学寄生虫学

王光西 王红

高等教育出版社

数字资源 先睹为快



教学PPT



视频



图片

“病原生物与免疫学实验”数字课程编委会

(按姓氏拼音排序)

包丽丽 (内蒙古医科大学)

陈 锋 (新疆医科大学)

黄红兰 (吉林大学)

梁韶晖 (温州医科大学)

刘世国 (新乡医学院)

宋向凤 (新乡医学院)

王香江 (莆田学院)

叶吉云 (昆明医科大学)

郑 斌 (新乡医学院)

曹 婧 (大连医科大学)

高云星 (皖南医学院)

江 滢 (贵阳医学院)

刘伯阳 (齐齐哈尔医学院)

申金雁 (山西医科大学)

王 松 (新疆医科大学)

杨 帆 (新乡医学院)

张艳丽 (宁夏医科大学)

系列课程与教材建设委员会

主任委员 来茂德（浙江大学/中国药科大学）

副主任委员 李 凡（吉林大学）

谢小薰（广西医科大学）

司传平（济宁医学院）

高兴亚（南京医科大学）

黄文华（南方医科大学）

委 员（按姓氏拼音排序）

陈 晓（新疆医科大学）

侯筱宇（徐州医学院）

李文林（南昌大学）

楼新法（温州医科大学）

沈岳良（浙江大学）

苏 川（南京医科大学）

王华峰（南方医科大学）

徐国强（贵阳医学院）

云长海（齐齐哈尔医学院）

曾晓荣（泸州医学院）

张建中（宁夏医科大学）

龚永生（温州医科大学）

李存保（内蒙古医科大学）

刘 佳（大连医科大学）

阮永华（昆明医科大学）

石京山（遵义医学院）

王 放（吉林大学）

解 军（山西医科大学）

杨保胜（新乡医学院）

曾思恩（桂林医学院）

张根葆（皖南医学院）

邹 原（大连医科大学）

秘 书 长 沈岳良（浙江大学）

吴雪梅（高等教育出版社）

出版说明

“十二五”期间是深化高等教育改革，走以提高质量为核心的内涵式发展道路和医学教育综合改革深入推进的重要时期。教育教学改革的核心是课程建设，课程建设水平对于教学质量和人才培养质量具有重要影响。2011年10月12日教育部发布了《教育部关于国家精品开放课程建设的实施意见》（教高〔2011〕8号），开启了信息技术和网络技术条件下新型课程建设的序幕。作为国家精品开放课程展示、运行和管理平台的“爱课程（iCourse）”网站也逐渐为高校师生和社会公众了解和喜爱。截至2013年12月31日，已有1 000门资源共享课和近500门视频公开课在“爱课程（iCourse）”网站上线。

高等教育出版社承担着“‘十二五’本科教学工程”中国国家精品开放课程建设的组织实施和平台建设运营的艰巨任务，在与广大高校，特别是高等医学院校的密切协作和调研过程中，我们了解到当前高校教与学的深刻变化，也真切感受到教材建设面临的挑战和机遇。如何建设支撑学生个性化自主学习和校际共建共享的新形态教材成为现实课题，结合我社2009年以来在数字课程建设上的探索和实践，我们提出了“高等学校基础医学类精品资源共享课及系列教材”建设项目，并获批列入科技部“科学思维、科学方法在高等学校教学创新中的应用与实践”项目（项目编号：2009IM010400）。项目建设理念得到了众多高校的积极响应，结合各校教学资源特色与课程建设基础，形成了以浙江大学为牵头单位、涵盖20余所高校的系列课程及教材建设委员会。2012年7月以来，陆续在浙江大学、南方医科大学、南京医科大学、山西医科大学、昆明医科大学、温州医科大学、宁夏医科大学、遵义医学院、新乡医学院和桂林医学院等召开了项目启动会、研讨会、主编会议、编写会议和定稿会议，2014年，项目成果“iCourse·教材：高等学校基础医学系列”陆续出版。

本系列教材包括《病理学》《组织学与胚胎学》《系统解剖学》《局部解剖学》《生理学》《药理学》《病理生理学》《医学微生物学》《医学免疫学》《医学寄生虫学》《医学细胞生物学》《医学遗传学》《生物化学》及《医学形态学实验》《医学机能学实验》《病原生物与免疫学实验》。系列教材特点如下：

1. 采用“纸质教材+数字课程”的出版形式。纸质教材与丰富的数字教学资源一体化设计，纸质内容精练适当，突出“三基”“五性”，并以新颖的版式设计和内容编排，方便学生学习和使用。数字课程对纸质内容起到巩固、补充和拓展作用，形成以纸质教材为核心，数字教学资源配合的综合知识体系。
2. 创新教学理念，引导个性化自主学习。通过适当教学设计，鼓励学生拓展知识面和针对某些重要问题进行深入探讨，增强其独立获取知识的意识和能力，为满足学生自主学习和教师创新教学方法提供支持。
3. 强调基础与临床实践的紧密联系，注重医学人文精神培养。在叙述理论的同时注重引入临床病例分析和医学史上重要事件及人物等作为延伸，并通过数字课程的“临床聚焦”“人文视角”等栏目加以深入解读。
4. 教材建设与资源共享课建设紧密结合。本系列教材是对各校精品资源共享课和教学改革研究成果的集成和升华，通过参与院校共建共享课程资源，更可支持各级精品资源共享课的持续建设。

本系列教材根据五年制临床医学及相关医学类专业培养目标、高等医学教育教学改革的需要和医学人才需求的特点，汇集了各高校专家教授们的智慧、经验和创新，实现了内容与形式、教学理念与教学设计、教学基本要求和个性化教学需求，以及资源共享课与教材建设的一体化设计。本系列教材还邀请了各学科知名

专家担任主审，他们的认真审阅和严格把关，进一步保障了教材的科学性和严谨性。

建设切实满足高等医学教育教学需求、反映教改成果和学科发展、纸质出版与资源共享课紧密结合的新形态教材和优质教学资源，实现“校际联合共建，课程协同共享”是我们的宗旨和目标。将课程建设及教材出版紧密结合，采用“纸质教材+数字课程”的出版形式，是我们一种新的尝试。尽管我们在出版本系列教材的工作中力求尽善尽美，但难免存在不足和遗憾，恳请广大专家、教师和学生提出宝贵意见与建议。

高等教育出版社

2013年12月

前言

为全面落实《教育部关于国家精品开放课程建设的实施意见》(教高[2011]8号)和《教育部关于“十二五”普通高等教育本科教材建设的若干意见》(教高[2011]5号),高等教育出版社组织一批专家,着眼于建设一批切实满足高等医学教育教学需求、反映教改成果和学科发展、纸质出版与数字化资源紧密结合的新形态教材和优质教学资源,以适应当前我国高等医学教育教学改革发展的形势与培养创新型、复合型医学人才的要求。

《病原生物与免疫学实验》将医学微生物学、医学寄生虫学和医学免疫学三门课程的实验有机结合,为“iCourse·教材:高等学校基础医学系列”之一。全书由医学微生物学实验、医学寄生虫学实验、医学免疫学实验及综合性实验组成,医学微生物学实验有9次实验内容,医学寄生虫学实验有7次实验内容,医学免疫学实验有4次实验内容,综合性实验设有7次实验内容,是形态学和机能学实验的有机结合。本书采用纸质教材配数字课程形式呈现,数字课程内有实验材料实录、结果观察、图片、操作视频、自测题、教学PPT,与正文相关知识点对应的数字资源类型及编号用标出,能极大弥补纸质教材之不足,为扩充学生视野、增强记忆和理解提供有益帮助。

本教材由大连医科大学、吉林大学白求恩医学院、宁夏医科大学、昆明医科大学、齐齐哈尔医学院、山西医科大学、新疆医科大学、莆田学院、皖南医学院、贵阳医学院、新乡医学院和温州医科大学等十余所大学的专业教师共同参与编写。各单位教学体系、教学侧重点、课程安排等不尽相同,加之本书由三门学科实验内容组成,所以在编写内容上尽量做到全面,以满足大家的不同要求。各教学单位可根据自己情况选择实验内容进行教学。

把微生物学、寄生虫学和免疫学实验有机结合在一本实验教材中,是多年来的第一次实验教材编写的尝试。本书得到了华中科技大学石佑恩教授的精心审阅和指导把关,在此致以衷心感谢。

由于编者水平有限,错误之处在所难免。敬请老师和同学批评指正。

刘世国 刘伯阳

2014年11月

目 录

第一篇 医学微生物学实验

- 001 实验一 微生物形态结构观察方法
- 008 实验二 微生物的分离培养技术
- 016 实验三 消毒与灭菌实验
- 020 实验四 细菌耐药性检测
- 025 实验五 细菌的生化反应
- 031 实验六 棒状杆菌的检测
- 036 实验七 分枝杆菌属的检测
- 039 实验八 厌氧菌的检测
- 045 实验九 真菌与放线菌的检测

第二篇 医学寄生虫学实验

- 050 实验一 阿米巴原虫
- 053 实验二 鞭毛虫
- 056 实验三 孢子虫
- 060 实验四 吸虫
- 066 实验五 绦虫
- 072 实验六 线虫
- 079 实验七 医学节肢动物

第三篇 医学免疫学实验

- 083 实验一 凝集反应
- 091 实验二 沉淀反应
- 099 实验三 免疫标记技术
- 106 实验四 免疫细胞检测

第四篇 综合性实验

- 110 实验一 细菌的致病性
- 113 实验二 病原性球菌的分离和鉴定（脓汁标本，ASO）
- 119 实验三 肠道致病菌的分离和鉴定（粪便标本，肥达反应）
- 124 实验四 病毒的分离培养技术与流感病毒的分离鉴定
- 133 实验五 乙型肝炎病毒的免疫学检测和分子生物学检测
- 140 实验六 免疫功能低下与机会性感染
- 146 实验七 日本血吸虫病动物模型的建立及实验诊断
- 149 中英文名词对照索引

第一篇

医学微生物学实验

实验一 微生物形态结构观察方法
实验二 微生物的分离培养技术
实验三 消毒与灭菌实验
实验四 细菌耐药性检测
实验五 细菌的生化反应

实验六 棒状杆菌的检测
实验七 分枝杆菌属的检测
实验八 厌氧菌的检测
实验九 真菌与放线菌的检测

实验一

微生物形态结构观察方法

关键词

细菌的形态结构 单染色 革兰染色 芽胞
荚膜 鞭毛

由于微生物体积微小，肉眼看不到，必须借助电子显微镜或光学显微镜才能观察到。因前者价格昂贵，设备条件要求高、操作较复杂，应用上受到一定的限制。所以一般实验室常用普通光学显微镜来进行微生物形态的观察。由于微生物为无色半透明体，因此观察其形态结构必须通过适当的染色方法使其着色后才能观察清楚。各种微生物在一定环境条件下，有相对恒定的形态与结构。因此，微生物形态结构研究对鉴别不同类群的微生物、进行微生物学诊断及分析病原微生物的致病性等工作有重要意义，微生物形态结构的观察是微生物学实验中十分重要的基本技术。

一、细菌的形态结构的观察

(一) 细菌单染色法

• 目的与要求

1. 学习微生物涂片、染色的基本技术, 掌握细菌的单染色法 (simple staining)。
2. 初步认识细菌的形态特征。
3. 巩固显微镜的使用方法。

• 实验原理

由于细菌微小, 加之它与周围的环境光学性质相近, 因而用一般光学显微镜不易看到。通常用染色的方法增加反差, 有助于细菌标本的观察。染料有带阴离子发色团的酸性染料和带有阳离子发色团的碱性染料。由于在一般生理条件下 (pH 7.4 左右) 细菌菌体都带负电荷, 因而更容易与碱性染料相结合。常用的碱性染料有结晶紫、亚甲蓝和碱性品红。

• 实验材料

1. 细菌: 金黄色葡萄球菌平板或斜面培养物, 大肠埃希菌平板或斜面培养物。
2. 试剂: 吕氏亚甲蓝染色液, 品红染色液, 香柏油, 生理盐水, 二甲苯。
3. 其他: 载玻片, 吸水纸, 接种环, 酒精灯, 擦镜纸, 显微镜。

• 方法与步骤

1. 涂片

(1) 取干净的载玻片一张。

(2) 接种环火焰灭菌, 取生理盐水一滴, 放在载玻片中央 (如被检材料是液体, 可不加生理盐水)。

(3) 左手斜持菌种管, 右手持接种环, 经火焰灭菌后, 用右手小指和无名指拨开菌种管棉塞, 管口通过火焰, 将接种环插入管中取菌少许。

(4) 管口再通过火焰, 塞好棉塞。

(5) 将接种环上的细菌加入载玻片上的水滴内, 磨匀, 涂成直径约 1 cm 大小的薄菌膜。

(6) 接种环经火焰灭菌。

2. 干燥: 涂片置于空气中, 使其自然干燥。

3. 固定: 干燥后将涂片在火焰上缓缓通过 3 次, 此为“固定”。目的是使细菌粘于载玻片上, 染色和水冲时不易脱落; 因细菌为蛋白质, 被热凝固可保持完整形态。

4. 染色

(1) 在固定后的标本上加吕氏亚甲蓝染液 (或品红染液) 以覆满标本为度, 染 1~2 min。

(2) 细流水自载玻片一端徐徐冲洗。

(3) 待其自然干燥或用吸水纸轻轻吸干。

(4) 油镜观察。

• 结果观察

根据观察结果, 绘出两种细菌的形态图。

• 注意事项

1. 载玻片要洁净无油迹; 涂片要涂抹均匀, 不宜过厚。
2. 热固定温度不宜过高, 否则会改变甚至破坏细胞形态。

3. 水洗时, 不要直接冲洗涂面, 而应使水从载玻片的一端流下, 水流不宜过急, 以免涂片薄膜脱落。

(二) 细菌革兰染色法

● 目的与要求

1. 掌握细菌的革兰染色法 (gram staining)。
2. 用油镜观察革兰阳性细菌和革兰阴性细菌的形态结构。

● 实验原理

革兰染色法可分为结晶紫初染、卢戈碘液媒染、乙醇脱色和品红复染四个步骤。采用革兰染色法可把细菌分为两大类, 即革兰阳性 (G^+) 细菌和革兰阴性 (G^-) 细菌。

一般认为, 革兰染色法与下列因素有关: ①革兰阳性细菌等电点低 (pI 为 2~3), 而革兰阴性细菌等电点高 (pI 为 4~5), 因此在一般生理条件下 (pH 7.4 左右), 革兰阳性细菌所带的负电荷要比阴性菌多得多, 从而与碱性染料结晶紫结合牢固。②革兰阴性细菌细胞壁有外膜结构, 含有较多的脂质成分, 对乙醇敏感, 脂质被乙醇溶解, 造成细胞壁破损, 结晶紫-碘复合物容易被抽提出来而脱色; 革兰阳性细菌细胞壁脂质含量低, 对乙醇不敏感, 且革兰阳性细菌细胞壁含有多层致密 (交联度大) 的肽聚糖层以及带有大量负电荷的磷壁酸, 结晶紫-碘复合物与细胞壁结合紧密, 不易被乙醇抽提出来, 细胞液仍保留结晶紫的蓝紫色。

● 实验材料

1. 细菌: 金黄色葡萄球菌平板培养物, 大肠埃希菌平板培养物。
2. 试剂: 结晶紫、95% 乙醇溶液、碘液、稀释品红各一瓶, 香柏油, 擦镜液, 生理盐水。
3. 其他: 载玻片, 吸水纸, 接种环, 酒精灯, 擦镜纸, 显微镜。

● 方法与步骤

1. 涂片、干燥、固定: 同单染色法。
2. 初染: 加结晶紫染液于标本上, 使其覆满标本, 染 1 min, 细水冲洗。
3. 媒染: 加卢戈碘溶液染 1 min, 细水冲洗。
4. 脱色: 加 95% 乙醇溶液于载玻片上, 脱色约 30 s, 倾去乙醇, 细水冲洗。
5. 复染: 加稀释品红染液复染约 1 min, 水洗, 待其自然干燥或用吸水纸轻轻吸干。
6. 镜检: 油镜观察。

● 结果观察

革兰阳性细菌染成蓝色或蓝紫色, 革兰阴性细菌染成红色。

● 注意事项

1. 涂片、固定同单染色法。
2. 严格掌握染色时间。

(三) 芽胞染色法

● 目的与要求

1. 熟悉细菌芽胞的染色方法。
2. 了解细菌芽胞的形态结构。

● 实验原理

细菌芽胞 (spore) 具有致密的多层壁膜结构, 通透性低, 难以染色, 故需采用加温染色法。

材料实录 1-1-1
细菌革兰染色法

操作视频 1-1-1
细菌革兰染色法

由于菌体和芽胞对染料的亲和力不同,先后采用不同的染料染色,可使芽胞和菌体呈不同的颜色。芽胞染色包括孔雀绿初染和番红复染。当先用弱碱性染料孔雀绿在加热条件下进行染色时,染料同时进入菌体和芽胞。经水洗后,菌体脱色,而芽胞由于其通透性低,染料不能被洗出。当用番红染液复染后,镜检可见芽胞呈绿色,菌体呈淡红色。

● 实验材料

1. 细菌:枯草芽胞杆菌 48 h 琼脂斜面培养物 1 支。
2. 试剂:0.5% 孔雀绿染液,0.5% 番红染液,生理盐水,香柏油,二甲苯。
3. 其他:载玻片,吸水纸,接种环,酒精灯,擦镜纸,显微镜。

● 方法与步骤

1. 取菌、涂片、固定(同单染色法)。
2. 加 0.5% 孔雀绿染液,加温染色 5 min。
3. 水洗。
4. 以 0.5% 番红染液复染 30 s。
5. 水洗。
6. 吸干或晾干。
7. 油镜观察,芽胞呈绿色,菌体呈淡红色。

● 结果观察

绘出细菌及其芽胞的形态特点。

(四) 荚膜染色法

● 目的与要求

熟悉细菌荚膜的染色方法。

● 实验原理

荚膜(capsule)是细菌在一定营养条件下向细胞壁表面分泌的一层松散透明、黏度大的胶状物质,其组成成分随细菌种类而异,多数为多糖或多肽类物质。荚膜不易着色,可采用负染色法,即将菌体和背景着色,菌体周围的透明层即为荚膜。由于荚膜为非离子型,染料只附着于表面而不能与其结合;同时,荚膜为水溶性物质,硫酸铜可用来洗去荚膜表面的染料而不能去除与细胞结合的染料,所以负染色后,菌体呈红色,硫酸铜吸附到荚膜上而使其显亮蓝色。细菌荚膜易变形,制片时一般不用加热固定。

● 实验材料

1. 细菌:肺炎链球菌培养液。
2. 动物:小白鼠。
3. 试剂:苯酚品红染液,20% 硫酸铜溶液,生理盐水,香柏油,二甲苯。
4. 其他:注射器,载玻片,吸水纸,接种环,酒精灯,擦镜纸,显微镜。

● 方法与步骤

1. 取肺炎链球菌培养液注射于小白鼠腹腔中(约 5 mL)。
2. 小白鼠死亡后,立即取腹腔液涂片。
3. 自然干燥。
4. 苯酚品红染液染色,并在酒精灯上加热至有蒸气产生,开始计时,维持 3~5 min。
5. 以 20% 硫酸铜溶液洗涤。

6. 干燥后用油镜检查, 在红色背景中可见深红色菌体, 在菌体周围有无色透明圈, 此为荚膜。

● 结果观察

绘出含荚膜的肺炎链球菌的形态结构。

(五) 鞭毛染色法

● 目的与要求

熟悉细菌鞭毛的染色方法。

● 实验原理

鞭毛(flagellum)是细菌菌体表面生长的纤细、弯曲、能收缩的丝状物, 其主要化学组成为蛋白质。鞭毛的长度为 $2\sim 5\ \mu\text{m}$, 最长可达 $50\ \mu\text{m}$, 直径很细, 一般为 $10\sim 20\ \text{nm}$ 。鞭毛可采用电子显微镜来观察, 也可用特殊的鞭毛染色法在油镜下观察。鞭毛染色的原理是在染色前先用媒染剂处理, 使它沉积在鞭毛上, 使鞭毛直径加粗, 然后再进行染色。

● 实验材料

1. 细菌: 伤寒沙门菌 8 h 培养液。
2. 试剂: 鞭毛染色液甲(明矾饱和液 20 mL, 20% 鞣酸 10 mL, 95% 乙醇溶液 15 mL, 蒸馏水 10 mL, 品红乙醇饱和溶液 3 mL 混合而成), 鞭毛染色液乙(硼砂 1 g, 亚甲蓝 1 g 溶于 200 mL 蒸馏水中), 生理盐水, 香柏油, 二甲苯。
3. 其他: 载玻片, 吸水纸, 接种环, 酒精灯, 擦镜纸, 离心机, 离心试管, 无菌吸管。

● 方法与步骤

1. 取菌液 2 mL, 加蒸馏水 2 mL, 离心沉淀($1\ 000\ \text{r/min}$, 10 min), 吸出上清液, 再加入蒸馏水, 摇匀后离心沉淀。如此操作 3~4 次, 吸出上清液, 沉淀后加入蒸馏水 2 mL, 摇匀后备用。
2. 用接种环在玻片上滴上述制备菌液, 使流成长条。
3. 干燥(在空气中自然干燥)。
4. 加鞭毛染色液甲染色 5 min, 水洗。
5. 加鞭毛染色液乙染色 1~2 min, 水洗。
6. 待干燥后用油镜镜检, 菌体呈蓝色, 鞭毛呈红色。

● 结果观察

绘出含鞭毛的伤寒沙门菌的形态结构。

二、真菌的形态结构观察

不同真菌(fungus)的菌丝和孢子的形态不同, 并形成不同的菌落。菌落、菌丝和孢子的特征是鉴别真菌的依据。

(一) 真菌的菌落观察

● 目的与要求

了解真菌接种、培养的一般程序, 熟悉常见真菌的菌落特点。

● 实验原理

不同真菌在沙保弱培养基上培养形成的菌落形态不同, 借此可将不同真菌区分开来。

● 实验材料

临床标本（可疑真菌感染）：毛发或皮屑。真菌菌种：新型隐球菌，白假丝酵母菌，絮状表皮癣菌。沙保弱葡萄糖斜面培养基（含青、链霉素）。70% 乙醇溶液、无菌生理盐水、平皿等。

● 方法与步骤

1. 临床标本用 70% 乙醇溶液浸泡数分钟，杀死表面杂菌，以无菌生理盐水洗涤。
2. 将处理过的临床标本和实验室保存菌种分别接种于 2~3 只含有青、链霉素的沙保弱葡萄糖斜面培养基上。对临床标本直接将数根毛发或数块皮屑接种，真菌菌种则用灭菌接种环按斜面培养基接种法接种。
3. 置 22~28℃ 培养 2~3 周或 37℃ 培养箱中培养 3~7 天。
4. 一周观察 1~2 次，临床标本连续培养 3 周无菌落生长者可报告阴性；如长出菌落，应逐日观察菌落形态及颜色变化。

● 结果观察

真菌的菌落从形态上可分三大类：酵母型菌落、类酵母型菌落及丝状菌落。

1. 酵母型菌落（观察新型隐球菌培养物）：菌落为圆形、白色，边缘整齐，表面光滑、湿润，假菌丝不伸入培养基内，和表皮葡萄球菌菌落相似。
2. 类酵母型菌落（观察白假丝酵母菌）：表面和酵母型菌落相似，但生成的假菌丝伸入培养基内。
3. 丝状菌落：观察各种皮肤丝状菌斜面培养物，菌落表面大都有气生菌丝，肉眼观察呈绒毛状、粉状、棉花样等，故称丝状菌落，色泽多种多样，红色毛菌呈紫红色，铁锈色毛菌呈铁锈色或棕色等，菌落底层有营养菌丝伸入培养基内。

（二）真菌的形态观察

● 目的与要求

掌握单细胞真菌和多细胞真菌的菌丝、孢子的形态特点。

● 实验原理

真菌的菌丝（hypha）有梳状菌丝、螺旋状菌丝、球拍样菌丝、结节状菌、鹿角状菌等多种形态，真菌的孢子（spore）有芽生孢子、厚膜孢子、小分生孢子、大分生孢子和关节孢子等，不同的真菌具有不同的菌丝和孢子，可借此对真菌进行分类鉴别。

● 实验材料

新型隐球菌，白假丝酵母菌，絮状表皮癣菌，石膏样小孢子菌，青霉菌。乳酚棉蓝染色液。载玻片，盖玻片等。

● 方法与步骤

取洁净玻片一块，滴加一滴乳酚棉蓝染色液，取上述真菌培养物少许放于染色液中，加上盖玻片后镜检。观察不同真菌的菌丝和孢子形态特点。

● 结果观察

真菌的菌丝和孢子均染成蓝色，画出 5 种真菌的菌丝和孢子特点。

（三）真菌性皮屑的镜检

● 目的与要求

掌握真菌不染色标本直接检查方法。

● 实验原理

直接检查真菌感染的皮屑标本，进行涂片检查，可直接观察到真菌的结构——菌丝和孢子。该法虽不能确定真菌的菌种（少数真菌除外），但却可以直接迅速地确定是否为真菌感染。

● 实验材料

患者皮屑标本（手足癣皮屑或体癣皮屑），10% 氢氧化钾溶液，盖玻片，小镊子及 95% 乙醇溶液等。

● 方法与步骤

取少量标本于载玻片上，滴加 1 滴 10% 氢氧化钾溶液，上覆盖玻片，将载玻片放在火焰上方微加热，使组织或角质溶解，但切勿过热以免产生气泡或烤干。也可将盖玻片稍加按压，使溶解的组织分散并使其透明，吸去周围溢液避免沾污盖玻片。镜检时先用低倍镜检查有无真菌菌丝或孢子，再以高倍镜观察菌丝、孢子的特征。

● 结果观察

阳性标本可见分枝菌丝或孢子。

（杨 帆）

思考题

1. 如果涂片未经加热固定，将会出现什么问题？如果加热温度过高、时间太长，又会怎样？
2. 在进行革兰染色时，为什么特别强调菌龄不能太老？用老龄细菌染色会出现什么问题？
3. 你认为革兰染色中，哪一个步骤可以省去而不影响最终结果？在什么情况下可以采用？

网上更多……

 自测题  教学 PPT